

Frequency of *Candida* species isolated from the Oral Cavity of HIV-Infected Patients referring to Behavioral disease Counseling Center of Isfahan in 2017-2018

Heidarian Asgha¹, Parvin Dehghan², Mostafa Chadeganipour³, Katayon Tayeri⁴

1. MS student of Medical mycology, Department of Mycology and Parasitology, Isfahan University of Medical Sciences .

2. PhD of Medical Mycology, Department of Mycology and Parasitology, Isfahan University of Medical Sciences .ORCID
CD:0000-0002-0000-6643

3. PhD of Medical Mycology, Department of Mycology and Parasitology, Isfahan University of Medical Sciences .

4. Infectious Diseases specialist and fellowship of AIDS Research Center ,Tehran University of Medical Sciences.

ABSTRACT

Background and Aim: patients infected with HIV are susceptible to opportunistic infections such as candidiasis. In normal individuals, *Candida* spp. exist as normal flora of the mucous membranes. In this study we compared the frequencies of different species of *Candida* between HIV infected patients receiving anti-retroviral therapy (ART) and normal individuals .

Materials and Methods: This case- control study included 60 HIV positive patients receiving antiviral therapy as our case group and 60 normal individuals as control group. Oral samples were prepared by two wet swabs and cultured on *Sabouraud dextrose agar*. Colonies grown on the culture medium were identified by phenotyping and molecular (PCR) methods at two different temperatures.

Results: *Candida* species were isolated from the oral mucosa of 68.3% of HIV positive patients and 53.3% of normal individuals. Rate of colonization of oral cavity by candida showed no significant relationships with the variable parameters of TCD4+ ($P = 0.12$), viral load ($P = 0.24$), and duration of HIV infection ($P = 0.92$), but it had significant relationships with brushing ($P = 0.001$), smoking ($P = 0.043$) and drug abuse ($P = 0.002$).

Conclusion: The result showed an increased shift of the yeast colonization from *C. albicans* to non- albicans species in HIV-infected subjects. Considering the susceptibility of this group to opportunistic infections such as candidiasis, regular and periodic monitoring of these patients is necessary. Tooth brushing, discontinuation of cigarette smoking and drug abuse, together with oral hygiene are recommended.

Keywords: AIDS, HIV, Candida, Viral load, *C. albicans*

Recived: feb3,2019

Accept: Aug24,2019

How to cite the article: Elham Razani, Davood Bashash. Frequency of *Candida* species isolated from the Oral Cavity of HIV-Infected Patients referring to Behavioral disease Counseling Center of Isfahan in 2017-2018. SJKU 2019; 24 (5): 30-41

بررسی فراوانی گونه‌های کاندیدایی جدا شده از دهان افراد مبتلا به HIV مراجعه کننده به مرکز مشاوره بیماری های رفتاری اصفهان در سال ۱۳۹۶

اصغر حیدریان^۱، پروین دهقان^۲، مصطفی چادگانی پور^۳، کتابون طایری^۴

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد قارچ شناسی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۲. دکترای قارچ شناسی گروه قارچ و انگل شناسی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران، تلفن ثابت: dehghan@med.mui.ac.ir، کد ارکید: ۶۶۴۳-۰۰۰۰-۰۰۰۲

۳. دکترای قارچ شناسی گروه قارچ و انگل شناسی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۴. متخصص بیماری های عفونی فلوشیپ مرکز تحقیقات ایدز، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

چکیده

زمینه و هدف: در بیماران آلوده به اچ آی وی زمینه برای ایجاد عفونت های فرصت طلب از جمله کاندیدیازیس فراهم می شود. کاندیدا در حالت طبیعی به صورت فلور نرمال در مخاطات یافت می شود. در این مطالعه، فراوانی انواع گونه های کاندیدا در دهان بیماران HIV مثبت تحت درمان ضد ویروسی در مقایسه با گروه شاهد مورد بررسی قرار می گیرد.

روش بررسی: در مطالعه مورد - شاهده حاضر، از ۶۰ بیمار مبتلا به HIV که تحت درمان ضد ویروسی بوده و یک گروه شاهد با روش سواب از حفره دهانی نمونه گیری انجام شد. کشت بر روی محیط سابورو دکستروز آگار انجام گرفت و کلنی های رشد کرده با روش فنوتیپیکی، مولکولی (PCR) و رشد در دماهای مختلف شناسایی شدند.

یافته ها: از دهان ۶۸/۳٪ افراد مبتلا به HIV و ۵۳/۳٪ از افراد نرمال گونه های کاندیدا جداسازی شد و رابطه معنی داری بین میزان کلونیزاسیون فلور دهانی کاندیدا با متغیرهای میزان TCD4+ ($P=0/12$)، بار ویروس (Viral Load) ($P=0/24$) و مدت زمان ابتلا به HIV ($P=0/91$)، مشاهده نشد ولیکن با مسواک زدن ($P=0/001$)، سیگار کشیدن ($P=0/043$) و مصرف مواد مخدر ($P=0/002$) ارتباط معنی دار مشاهده شد.

نتیجه گیری: این بررسی نشان داد که در بیماران ایدزی یک شیفت و افزایش به گونه های غیر آلیکسنسی دیده می شود و با توجه به حساسیت این گروه به عفونت های فرصت طلب، مانیتورینگ مرتب و دوره ای در این گروه پیشنهاد می شود. همچنین با توجه به نقش مسواک زدن و عدم مصرف مواد مخدر و سیگار در کاهش فلور کاندیدایی، رعایت بهداشت دهان در این گروه توصیه می شود.

کلیدواژه ها: HIV، کاندیدا، کاندیدا آلیکسنس، بار ویروس (Viral Load)

وصول مقاله: ۹۷/۱۱/۱۴ اصلاحیه نهایی: ۹۸/۵/۵ پذیرش: ۹۸/۶/۲

مقدمه

کاندیدا یکی از قارچ‌های مخمری فرصت‌طلب است که جزو فلور نرمال مخاطات در بدن بوده و در دهان و دستگاه گوارش ۵۰-۳۰٪ از افراد طبیعی یافت می‌شود که البته در بیماران تحت مراقبت پزشکی این مقدار بسیار بیشتر گزارش شده است (۱). بیماری ایدز یکی از مهم‌ترین بیماری‌های نقص سیستم ایمنی سلولی است که توسط ویروس HIV ایجاد شده و با توجه به تهاجم این ویروس به سلول‌های لنفوسیت + CD4 و از بین بردن این سلول‌ها که به نوعی نقش فرماندهی سیستم دفاع سلولی را بر عهده دارند، زمینه را برای ایجاد بیماری‌های عفونی فرصت‌طلب از جمله کاندیدیازیس فراهم می‌کند. به طوری که حدود ۹۰٪ از افراد مبتلا به HIV حداقل یک‌بار در طول بیماری به ضایعات دهانی ناشی از این مخمر مبتلا می‌شوند (۲). ضایعات دهانی معمولاً اولین علامت بروز یافته در بیماران مبتلا به HIV بوده، که با پیگیری علت آن، منجر به تشخیص ایدز در آن‌ها شده است و شایع‌ترین ضایعه در بیماران HIV مثبت است (۳ و ۴). کاندیدا آلیکس با فراوانی ۶۰ تا ۸۰ درصد به عنوان شایع‌ترین گونه جدا شده از دهان بیماران و افراد سالم است (۵-۷). در سال ۱۹۹۷ Coleman و همکاران در گزارشی مربوط به بیماری کاندیدیازیس در افراد مبتلا به ایدز به گونه جدیدی از کاندیدا به نام کاندیدا دابلینسیس اشاره نموده و در مورد این گونه جدید در افراد ایدزی می‌پردازد که از نظر فتوتیپی خیلی شبیه کاندیدا آلیکس است، ولی از نظر ژنوتیپی متفاوت بوده و از نظر شدت بیماری‌زایی و مقاومت به داروی فلوکونازول حائز اهمیت بیشتری است (۸). در مطالعه‌ای که در ایران بر روی ۱۵۰ بیمار مبتلا به ایدز انجام شد، از حفرات دهانی ۷۷/۲٪ از

بیماران گونه های مخمری جدا کردند که ۵۰٪ آن‌ها کاندیدا آلیکس، ۲۲٪ کاندیدا گلابراتا و مابقی انواع دیگر کاندیدا بودند (۹). در مطالعه مشابه دیگری که از نمونه دهانی ۱۵۰ بیمار آلوده به ویروس HIV انجام شد، از ۸۹ نفر (۵۹/۳٪) آن‌ها کاندیدا جدا گردید که ۵۲/۹٪ آن‌ها کاندیدا آلیکس، ۱۵/۷٪ کاندیدا دابلینسیس، ۱۱/۸٪ کاندیدا تروپیکالیس و ۱۹/۶٪ بقیه گونه‌ها تشخیص داده شد (۱۰). در ایتالیا در مطالعه‌ای بر روی ۴۲ بیمار HIV+ از ۶۱/۹٪ آن‌ها گونه‌های کاندیدا جدا کردند که فراوان‌ترین گونه کاندیدا آلیکس با ۷۳/۱٪ بود (۱۱) و از تعداد ۷۵ بیمار مبتلا به ایدز، در هندوستان در ۶۵/۳۳٪ آنان مخمر کاندیدا از دهانشان جدا کردند در حالی که در گروه کنترل این مقدار ۴۲/۳۱٪ بود و فراوان‌ترین گونه جدا شده کاندیدا آلیکس به میزان ۶۹/۳۹٪ بود (۱۲).

با توجه به اهمیت پراکندگی گونه‌های متفاوت کاندیدا و تفاوت مقاومت‌های دارویی در گونه‌های متفاوت کاندیدا، هدف اصلی در تحقیق حاضر ارزیابی میزان و نوع فلور دهانی کاندیدیایی در بیماران مبتلا به ویروس HIV تحت درمان ضد ویروسی جهت کمک به پزشکان درمانگر این بیماران است.

روش بررسی

این مطالعه از نوع مورد-شاهدی بوده و معیار ورود در مطالعه بیماران HIV مثبت تحت درمان ضد ویروسی می‌باشند که بیماری آن‌ها طبق پروتکل کشوری با روش (ایمونوکروماتوگرافی Rapid) و دو کیت متفاوت الایزای نسل چهارم مورد تأیید آزمایشگاه مرجع سلامت، به اثبات رسیده است (۱۳). جهت دریافت مراقبت‌های دوره‌ای و درمان به مرکز مشاوره بیماری‌های رفتاری

اصفهان در سال ۱۳۹۶ مراجعه می‌کردند و یک گروه کنترل نیز شامل افراد HIV منفی که از نظر سن و جنس مشابه گروه بیماران بودند و بیماری زمینه‌ای خاصی نداشتند، انتخاب شدند.

حجم نمونه نیز بر اساس محاسبات آماری انجام شده توسط مشاور آماری ۶۰ نفر برای هر گروه تعیین شد. معیار خروج از مطالعه افرادی بودند که در یک ماه گذشته داروی ضد قارچی مصرف کرده باشند و یا به هر دلیل از شرکت در مطالعه انصراف دهند. در ابتدا یک رضایت‌نامه بر اساس فرمت تهیه شده در کمیته اخلاق دانشگاه توسط فرد داوطلب تکمیل شد و اطلاعات دموگرافیک شامل جنسیت، سن، مدت ابتلا به ایدز، مسواک زدن، مصرف دهان‌شویه، مصرف سیگار، ابتلا به دیابت، مصرف مواد مخدر، نوع و میزان رابطه جنسی از شخص مراجعه کننده در یک برگه جداگانه ثبت گردید و میزان Viral Load و CD4 آن‌ها از پرونده پزشکی آن‌ها استخراج گردید.

سپس با دو عدد سواب از حفره دهانی این افراد با مالش سواب به نقاط مختلف دهان به خصوص اطراف لثه و دندان‌ها نمونه‌گیری انجام گرفت. یکی از سواب‌ها بر روی محیط کشت سابورو دکستروز آگار (مرک)، آلمان) به صورت فرشی کشت داده شد و با یکی از سواب‌ها یک عدد اسمیر بر روی لام تهیه شد. لام‌ها با روش گیمسا رنگ آمیزی شد و محیط‌های کشت به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۳۷ درجه قرار گرفت.

کلنی‌های رشد کرده در محیط سابورو دکستروز آگار به عنوان معیاری از میزان و شدت کلونیزاسیون شمارش شد و بر روی یک محیط کروم کاندیدا آگار (هایمدیا، هند) جهت افتراق بر اساس رنگ کلنی، پاساژ داده شد و به مدت ۴۸ ساعت در ۳۷ درجه انکوبه شد.

انجام آزمایش‌های مولکولی:

استخراج DNA: جهت انجام آزمایش ملکولی بر روی گونه‌های رشد کرده، از این کلنی‌ها یک پاساژ بر روی یک محیط سابورو دکستروز آگار دیگر داده شد و برای ۲۴ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه قرار داده شد. از کلنی‌های رشد کرده به اندازه یک لوپ پر درون یک میکرو تیوب ۲ میلی لیتری حاوی ۵۰ میکرولیتر آب مقطر استریل انتقال داده شد و برای ۱۵ دقیقه در بن ماری جوش قرار داده شد. سپس این میکروتیوب‌ها درون میکروسانتریفوژ با دور ۱۲۰۰۰g برای ۵ دقیقه سانتریفوژ شد و از محلول رویی جهت انجام آزمایش‌های مولکولی به یک میکروتیوب استریل DNA Free انتقال داده شد (۱۴).

انجام واکنش PCR: در مرحله اول واکنش PCR با استفاده از پرایمرهای ITS1 و ITS4 با حجم کلی ۳۰ میکرولیتر برای یک واکنش (Mastermix) ۱۵ میکرولیتر (Amplicon دانمارک)، Primer ITS1 ۵/، میکرولیتر با غلظت ۲۵ پیکومول، Primer ITS4 ۵/، میکرولیتر با غلظت ۲۵ پیکومول، آب مقطر استریل ۱۲ میکرولیتر، DNA ۲ میکرولیتر) و سیکل دمایی ترموسایکلر [۹۵° سانتی گراد ۵ دقیقه، ۹۴° سانتی گراد ۳۰ ثانیه، ۵۵° سانتی گراد ۴۵ ثانیه، ۷۲° سانتی گراد ۴۵ ثانیه، از دمای ۹۴° تا ۷۲° (۳۵ سیکل) و در انتها ۷۲° سانتی گراد ۵ دقیقه] انجام شد. توالی پرایمرهای مورد استفاده در واکنش به قرار زیر است:

ITS1= 5'TCC GTA GGT GAA CCT (TGC GG3')
ITS4= 5'TCC TCC GCT TAT TGA (TAT GC3')
از محصول PCR در ژل ۱٪ الکتروفورز انجام گرفت (۱۵).

۳۰۰ bp ظاهر شدند (۱۷ و ۱۸). همچنین جهت تمایز دو گونه آلیکنس و دابلینسیس از کشت در دمای ۴۲ و ۴۵ درجه سانتی گراد نیز استفاده شد که از هر نمونه کلنی مشکوک به این دو گونه بر روی دوسری محیط سابورو دکستروز آگار کشت داده شد و یک سری از محیطها در دمای ۴۲ درجه و سری دیگری در دمای ۴۵ درجه سانتی گراد به مدت ۴۸ ساعت انکوبه شد (۱۹).

بمنظور تجزیه و تحلیل؛ داده های دموگرافیک بیماران و نتایج تشخیص آزمایش های در برنامه نرم افزاری SPSS 20 وارد شد و با آزمون های آماری ANOVA جهت مقایسه چند گروهی و آزمون اسپیرمن جهت بررسی همبستگی متغیرهای کمی مورد تحلیل قرار گرفت. ضمانت اخلاق مربوط به مطالعه در دانشگاه علوم پزشکی اصفهان به IR.MUI.REC.1396.3.602 ثبت گردیده است.

یافته ها

از ۶۰ نفر بیمار HIV مثبت تحت درمان ویروس (ART) که به این مرکز مراجعه کرده و حاضر به شرکت در این مطالعه شدند ۴۰ نفر مرد و ۲۰ نفر زن که از نظر سنی در رده سنی بین ۱۰ تا ۶۵ سال و بیشترین فراوانی در محدوده ۳۰-۴۵ سال بود. مدت زمان ابتلا به HIV در این افراد بین ۱ تا ۱۵ سال، با میانگین ۵/۶ سال بود. از ۴۱ نفر (۶۸/۳٪) آنها مخمر کاندیدا ایزوله شد که این میزان در گروه شاهد ۳۲ نفر (۵۳/۳٪) بود. با توجه به رنگ کلنی های پاساژ داده شده بر روی محیط کروم کاندیدا آگار، کلنی های سبز تا سبزی مشکوک به کاندیدا آلیکنس و دابلینسیس، کلنی های کرم، کرم صورتی تا بنفش مشکوک به کاندیدا گلابراتا، کروزه

در مرحله بعد با روش PCR-RFLP و استفاده از آنزیم محدودالایتر MspI از محصول PCR بالا واکنشی با حجم ۱۵ میکرومتر [شامل آنزیم MspI ۰/۵ میکرولیتر (Thermo Fisher آمریکا)، بافر X10 آنزیم ۱/۵ میکرولیتر، آب مقطر استریل ۳ میکرولیتر و محصول PCR ۱۰ میکرولیتر] در دمای ۳۷° سانتی گراد به مدت ۹۰ دقیقه واکنش انجام شد (۱۳). انجام الکتروفورز با استفاده از ژل آگاروز ۱/۵٪ بر روی محصول واکنش PCR-RFLP انجام گرفت (۱۶).

نظر به اینکه با روش های بالا کاندیدا آلیکنس و دابلینسیس قابل افتراق نمی باشند از روش Duplex-PCR برای تمایز بین این دو گونه با حجم واکنش ۱۵ میکرولیتر (Mastermix ۷/۵ میکرولیتر، ۰/۵ میکرولیتر از Primer CALF با غلظت ۲۰ پیکومول، ۰/۵ میکرولیتر از Primer CALR با غلظت ۲۰ پیکومول، ۰/۵ میکرولیتر از Primer CDUF با غلظت ۲۰ پیکومول، ۰/۵ میکرولیتر از Primer CDUR با غلظت ۲۰ پیکومول، آب مقطر استریل ۳/۵ میکرولیتر و DNA ۲ میکرولیتر) و سیکل دمایی دستگاه ترموسایکلر [۹۵° سانتی گراد ۵ دقیقه، ۹۴° سانتی گراد ۲۰ ثانیه، ۶۰° سانتی گراد ۴۵ ثانیه، ۷۲° سانتی گراد ۳۰ ثانیه، از دمای ۹۴° تا ۷۲° (۳۵ سیکل) و در انتها ۷۲° سانتی گراد ۵ دقیقه] انجام گرفت.

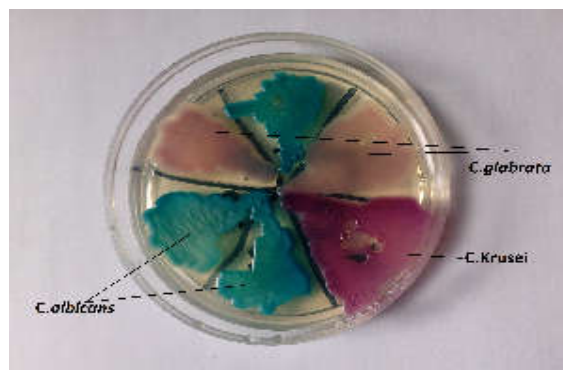
CALF = 5'-TGGTAAGGCGGATCGCTT-3'
CALR = 5'-GGTCAAAGTTTGAAGATATAC-3'
CDUF = 5'-AAACTTGTCACGAGATTATTTTT-3'
CDUR = 5'-AAAGTTTGAAGAATAAAATGGC-3'

جهت مشاهده باندهای تکثیر شده، از الکتروفورز با ژل آگاروز ۱/۵٪ استفاده شد که باندهای کاندیدا آلیکنس در محدوده ۱۰۰ bp و کاندیدا دابلینسیس در محدوده

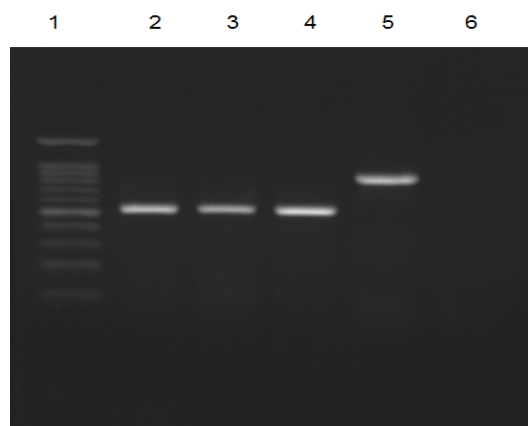
ای، پاراپسیلوسیس و کفایر و کلنی‌های آبی رنگ مشکوک به کاندیدا تروپیکالیز طبقه بندی شدند (شکل ۱) (۱۵).
 با بررسی نتایج از آزمایش‌های مولکولی از ۴۱ گونه جدا شده در گروه بیماران HIV مثبت ۱۸ گونه (۴۴٪) کاندیدا آلیکنس، ۱۱ گونه (۲۶/۸٪) کاندیدا گلابراتا، ۷ گونه (۱۷/۱٪) کاندیدا دابلینسیس و ۵ گونه (۱۲/۱٪) سایر گونه‌ها بود. این مقادیر در گروه شاهد به ترتیب ۷/۷۸٪، ۲/۶٪، ۱/۳٪ و ۷/۱۲٪ بود (شکل ۲ تا ۴) و (جدول ۱).

جدول ۱. فراوانی گونه‌های کاندیدا جدا شده از بیماران مبتلا به HIV و گروه شاهد

| گونه | تعداد (درصد) ایزوله جدا شده در گروه مبتلا به HIV | تعداد (درصد) ایزوله در گروه شاهد |
|--------------------|--|----------------------------------|
| کاندیدا آلیکنس | ۱۸ (۴۴٪) | ۲۵ (۷۸٪) |
| کاندیدا گلابراتا | ۱۱ (۲۶/۸٪) | ۲ (۶/۲٪) |
| کاندیدا دابلینسیس | ۷ (۱۷/۱٪) | ۱ (۳/۱٪) |
| کاندیدا تروپیکالیز | ۲ (۴/۸٪) | ۱ (۳/۱٪) |
| کاندیدا کروژنی | ۱ (۲/۴٪) | ۱ (۳/۱٪) |
| کاندیدا کفایر | ۲ (۴/۸٪) | ۲ (۶/۲٪) |

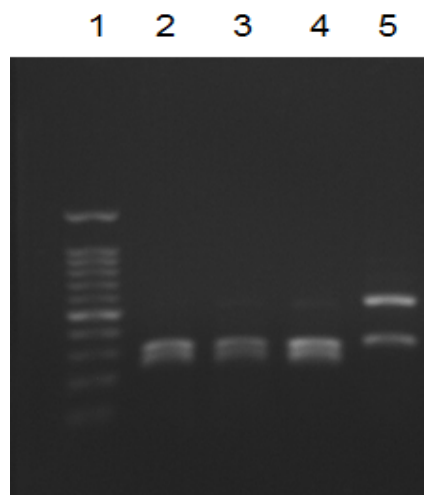


شکل ۱. رنگ کلنی‌های انواع کاندیدی جدا شده از دهان افراد مورد مطالعه بر روی محیط کروم کاندیدا آگار



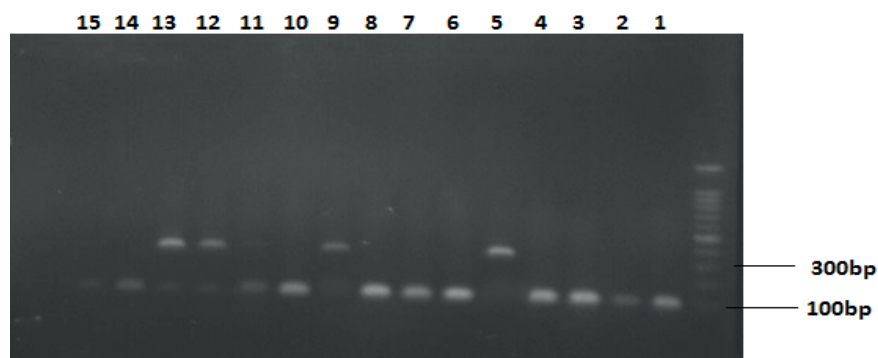
شکل ۲. واکنش PCR با استفاده از پرایمرهای ITS1 و ITS4

۱- Ladder- ۲ و ۳ و ۴ کاندیدا آلبيکنس ۵- کاندیدا گلابراتا ۶- بلانک



شکل ۳. واکنش PCR-RFLP با استفاده از آنزیم محدودالایتر Msp1

۱- Ladder- ۲ و ۳ و ۴ کاندیدا آلبيکنس ۵- کاندیدا گلابراتا



شکل ۴. واکنش Duplex-PCR جهت تمایز کاندیدا آلبيکنس از دابلینینسیس: ۱-۴ و ۶-۸ و ۱۰-۱۱ و ۱۴-۱۵ کاندیدا آلبيکنس، ۵ و ۹ و ۱۲-۱۳ کاندیدا دابلینینسیس

آلیکسنس و گلابراتا جدا شد و در گروه شاهد میانگین کلنی کانت ۱۷۳ بود که در یک مورد که بالای ۱۰۰۰ کلنی در پلیت رشد کرده بود کلینیزاسیون توأم کاندیدا آلیکسنس و کفایر مشاهده شد.

در نتیجه کشت کاندیداهای مشکوک به کمپلکس آلیکسنس/دابلینسیس در دو دمای ۴۲ و ۴۵ درجه، کاندیدا آلیکسنس در هر دو دما رشد کرد ولیکن کاندیدا دابلینسیس فقط در دمای ۴۲ درجه رشد کرده بود که نتایج به دست آمده از این آزمایش با نتایج به دست آمده از روش Duplex-PCR تطابق داشت (شکل ۵).

از ۴۱ بیمار HIV مثبت که دارای فلور دهانی کاندیدایی بودند ۷۳٪ مرد و ۲۷٪ زن بودند و در گروه شاهد نیز از ۳۲ نفر دارای فلور دهانی کاندیدا ۶۲٪ مرد و ۳۸٪ زن بودند، لذا در هر دو گروه میزان کلونیزاسیون دهانی کاندیدا در مردان بیش از زنان بوده است. هیچ کدام از بیماران دارای ضایعه دهانی نبودند در لام مستقیم آنها سودوهایف مشاهده نشد در حالی که در محیط کشت تعداد کلنی قابل توجهی رشد نمود.

میانگین کلنی کانت رشد کرده در هر پلیت در گروه بیماران ۱۸۷ کلنی بود که در ۵ مورد از آنها که بیشتر از ۲۰۰ کلنی رشد کرده بود کلونیزاسیون توأم کاندیدا



شکل ۵. تمایز دو گونه آلیکسنس و دابلینسیس با روش کشت در دمای ۴۲ درجه و ۴۵ درجه سانتی گراد

همچنین ۲۷ نفر از این بیماران سیگاری بوده که با وجود فلور کاندیدایی ($P=0/043$) رابطه معنی داری داشت ۱۴ نفر نیز مواد مخدر مصرف می کردند که با وجود فلور کاندیدایی ($P=0/002$) رابطه معنی دار داشت. همچنین میانگین مدت زمان ابتلا به HIV در این گروه ۵/۶ با رنج بین ۱ تا ۱۵ سال بود و نیمی از آنها زیر ۴ سال مدت زمان ابتلای آنها بود و البته با میزان کلونیزاسیون فلور کاندیدایی ($P=0/084$) رابطه معنی داری نداشت. با توجه به اینکه تنها ۶ نفر از این

۲۹ نفر از مبتلایان به HIV دارای بار ویروسی ۶۰ تا ۲۸۷۳۲۰ بودند ولیکن رابطه معنی داری بین میزان Viral Load و وجود فلور دهانی کاندیدا ($p=0/24$) مشاهده نشد. میزان سلول های $CD4+$ در این گروه بین ۱۸ تا ۱۲۰۰ با میانگین ۴۹۹ بود که باز رابطه معنی داری بین میزان $CD4+$ و کلونیزاسیون کاندیدایی ($p=0/12$) مشاهده نشد. تعداد ۲۶ نفر از این بیماران حداقل روزی یک بار مسواک می زدند که با کلونیزاسیون فلور کاندیدایی ($p<0/001$) رابطه معنی داری داشت.

گروه مبتلا به دیابت بودند و دهان شویه هم فقط توسط ۶ نفر استفاده می شد و اکثر این افراد به سؤالات مربوط به نوع و میزان رابطه جنسی پاسخ نداده بودند این متغیرها در مطالعه مداخله داده نشدند.

بحث

مطالعه حاضر نشان داد که کلونیزاسیون کاندیدا در دهان افراد مبتلا به ایدز در اصفهان بالاتر از افراد نرمال است و این مقدار (۶۸/۸٪) تقریباً با مطالعه Khedri و همکاران با ۵۹/۳٪، Giuseppina و همکاران در ایتالیا با ۶۱/۹٪، Kulshreshtha و همکاران در هند با ۶۵/۳۳٪ و Lourenço و همکاران در برزیل با ۵۸٪ همخوانی داشت (۹-۱۲ و ۲۰). در عین حال این مقدار در مقایسه با مقداری که Katirae و همکاران در تهران به دست آوردند (۷۷/۲٪) کمتر است (۹)، که شاید به این علت باشد که نمونه گیری در مطالعه اخیر در مرکز تحقیقات ایدز تهران واقع در بیمارستان امام خمینی صورت گرفته که مخصوص بیماران ایدزی است و ۵۹/۹٪ آن ها دارای علائم ظاهری کاندیدیازیس دهانی بوده اند، در صورتی که شرکت کنندگان در این مطالعه افراد HIV مثبت تحت درمان ضد ویروسی بوده که هیچ کدام دارای علائم کاندیدیازیس دهانی نبودند. در این مطالعه فراوان ترین گونه کاندیدا جدا شده کاندیدا آلیکس بود که با سایر مطالعات همخوانی داشت و حتی در گروه های در معرض خطر دیگر مثل افراد همودیالیزی با ۶۶/۶٪، افراد مبتلا به آسم که کورتیکواستروئید مصرف می کردند با ۷۶/۶٪، دیابتی ها ۹۳/۷٪، بیماران سرطانی با ۷۲/۲٪، معتادان تزریقی مبتلا به HCV با ۵۶/۶٪ و سایر بیماری های نقص سیستم ایمنی انجام

گرفته است همخوانی داشت (۲۷-۲۱). در مطالعه حاضر ۶۶٪ از کاندیداهای ایزوله شده غیر آلیکس بودند در حالی که در گروه شاهد از ۳۲ کاندیدا ایزوله شده ۷۸٪ آن ها کاندیدا آلیکس و تنها ۲۲٪ گونه های غیر آلیکس بودند که نشان دهنده یک افزایش به سمت گونه های غیر آلیکس در بیماران آلوده به HIV است و این رویکرد نه تنها در مطالعات دیگر صورت گرفته در بیماران مبتلا به HIV وجود دارد، بلکه حتی در مطالعه ای که Mohammadi و همکاران بر روی بیماران دیابتی انجام دادند نیز مشاهده شده است. به طوری که در مطالعه صورت گرفته بر روی بیماران دیابتی از ۳۲ گونه کاندیدای جدا شده ۲۱ گونه آن آلیکس و ۱۱ گونه آن غیر آلیکس بوده در حالی که در گروه کنترل آن مطالعه از ۱۷ گونه کاندیدای جدا شده ۱۳ گونه آن آلیکس و تنها ۴ گونه آن غیر آلیکس بوده است (۲۷). همچنین در مطالعه حاضر کاندیدا دابلینسیس با فراوانی ۱۷/۱٪ از دهان بیماران جدا شد که با مقدار به دست آمده توسط Khedri و همکاران (۱۵/۷٪) تقریباً همخوانی داشت (۱۰). البته جداسازی کاندیدا دابلینسیس در سایر بیماری هایی که سیستم ایمنی بدن لزوماً تضعیف شده نیست، نیز رو به افزایش است به طوری که Kianipour و همکاران از ۱۲۰ نمونه برنکوآلوتولار (BAL) دو گونه کاندیدا دابلینسیس و Abharian و همکاران در مطالعه ای که بر روی ۸۳ معتاد به مواد مخدر انجام داد، تعداد ۱۴ گونه کاندیدا دابلینسیس از دهان مبتلایان به مواد مخدر جدا کرد (۲۵ و ۲۸). در مورد نقش سلول های CD4+ در کاهش کلونیزاسیون فلور کاندیدیایی اختلاف نظر زیاد وجود دارد که بعضی برای آن رابطه معنی دار

نمودن بیوفیلیم کاندیدایی و مخمرها از دندان‌ها و لثه و حفره دهانی است (۲۶ و ۲۷).

نتیجه‌گیری

این بررسی نشان داد که میزان جداسازی گونه‌های کاندیدا به خصوص گونه‌های غیر آلیکس در افراد مبتلا به HIV بیشتر از افراد سالم است و با توجه به حساسیت این گروه به عفونت‌های فرصت طلب از جمله کاندیدیازیس، مانیتورینگ مرتب و دوره‌ای در این گروه پیشنهاد می‌شود. همچنین با توجه به نقش مسواک زدن و عدم مصرف مواد مخدر و سیگار در کاهش فلور کاندیدایی، توصیه به رعایت بهداشت دهان در این گروه توصیه می‌گردد.

تشکر و قدردانی

مقاله حاضر حاصل پایان نامه کارشناسی ارشد با شماره طرح تحقیقاتی شماره ۳۹۶۶۰۲ و تلاش همکاران گروه قارچ و انگل‌شناسی دانشکده پزشکی اصفهان و مرکز بهداشت دانشگاه علوم پزشکی اصفهان است که از همکاری کلیه این عزیزان تقدیر و تشکر به عمل می‌آید.

Reference

1. Malcolm D. Richardson DWW. Fungal Infection DIAGNOSIS AND MANAGEMENT 2012.
2. Schwarcz L, Chen M-J, Vittinghoff E, Hsu L, Schwarcz S. Declining incidence of AIDS-defining opportunistic illnesses: results from 16 years of population-based AIDS surveillance. Aids. 2013;27(4):597-605.
3. Sangeorzan JA, Bradley SF, He X, Zarins LT, Ridenour GL, Tiballi RN, et al. Epidemiology of oral candidiasis in HIV-infected patients: colonization, infection, treatment, and emergence of fluconazole resistance. The American journal of medicine. 1994;97(4):339-46.

به دست آورده‌اند (۲۰ و ۳۱ و ۳۰) و در مواردی رابطه معنی داری برای نقش آن به دست نیامده است (۱۱). در مطالعه حاضر نیز رابطه معنی داری در مورد نقش سلول‌های CD4+ و کاهش کلونیزاسیون کاندیدایی به دست نیامد. در خصوص تأثیر متغیر مدت زمان ابتلا به ایدز و کلونیزاسیون فلور کاندیدایی در این مطالعه رابطه معنی داری به دست نیامد درحالی که در مطالعه صورت گرفته توسط Katiraei و همکاران با افزایش سن رابطه معنی دار وجود داشت، شاید علت این تفاوت به این دلیل باشد که بیشتر بیماران مطالعه حاضر مدت ابتلایشان به HIV زیر ۴ سال بوده است (۹). میزان کلونیزاسیون کاندیدا با کشیدن سیگار و مصرف مواد مخدر رابطه مستقیم داشت و تأثیر مستقیم سیگار در مطالعات دیگری نیز نشان داده شده است (۲۶ و ۲۵ و ۱۰ و ۹)، و به نظر می‌رسد این افزایش کلونیزاسیون کاندیدا ناشی از تأثیر سیگار در تغییر سلول‌های اپیتلیال دهان، کاهش سلول‌های لانگرهانس و لکوسیت‌های دهان باشد. همچنین رابطه معکوسی بین مسواک زدن و کلونیزاسیون کاندیدا مشاهده شد که در مطالعات دیگر نیز این رابطه به دست آمده است که احتمالاً دلیل آن شستشوی دهان و برداشتن و جدا

4. Strollo S, Lionakis MS, Adjemian J, Steiner CA, Prevots DR. Epidemiology of Hospitalizations Associated with Invasive Candidiasis, United States, 2002-2012(1). *Emerg Infect Dis*. 2016;23(1):7-13.
5. Pfaller M, Diekema D. Epidemiology of invasive candidiasis: a persistent public health problem. *Clinical microbiology reviews*. 2007;20(1):133-63.
6. Akpan A, Morgan R. Oral candidiasis. *Postgraduate medical journal*. 2002;78(922):455-9.
7. Williams D, Lewis M. Pathogenesis and treatment of oral candidosis. *Journal of oral microbiology*. 2011;3(1):5771.
8. Coleman DC, Sullivan DJ, Bennett DE, Moran GP, Barry HJ, Shanley DB. Candidiasis: the emergence of a novel species, *Candida dubliniensis*. *Aids*. 1997;11(5):557-67.
9. Katiraei F, KAR, Khalaj V, Hajiabdolbaghi M, Khaksar A A, Rasoulinejad M et al Oral candidiasis in Human Immunodeficiency Virus (HIV) infected Tehran Univ Med J. 2010;68 (1) 37-44.
10. Khedri S, Santos A, Roudbary M, Hadighi R, Falahati M, Farahyar S, et al. Iranian HIV/AIDS patients with oropharyngeal candidiasis: identification, prevalence and antifungal susceptibility of *Candida* species. *Letters in applied microbiology*. 2018;67(4):392-9.
11. Campisi G, Pizzo G, Milici ME, Mancuso S, Margiotta V. Candidal carriage in the oral cavity of human immunodeficiency virus-infected subjects. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*. 2002;93(3):281-6.
12. Kulshreshtha S, Verma U, Khatri PK, Lal P. Prevalence of Oral *Candida* Carriage Rate among HIV Infected Asymptomatic and Non Infected Persons, their Antimycotic Sensitivity and its Association with CD4 Counts. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*. 2016;5(11):542-5.
13. Samiei S TK, Abasian L, mohrez M, Namdari H. HIV treatment counseling and diagnostic Country guidelines. In: Health Mo, editor. Department of Health and Medical Education 2017.
14. Silva GAd, Bernardi TL, Schaker PDC, Menegotto M, Valente P. Rapid yeast DNA extraction by boiling and freeze-thawing without using chemical reagents and DNA purification. *Brazilian Archives of Biology and technology*. 2012;55(2):319-27.
15. Afsarian MH ZF, Kordbacheh P, Mahmoudi M, Rezaii S, Safara M. Identification and study of non-albicans *Candida* species which isolated from clinical materials of patients with candidiasis. *Tehran University Medical Journal (TUMJ)*. 2007;64:38-47.
16. Mohammadi R, Mirhendi H, Rezaei-Matehkolaei A, Ghahri M, Shidfar MR, Jalalizand N, et al. Molecular identification and distribution profile of *Candida* species isolated from Iranian patients. *Medical mycology*. 2013;51(6):657-63.
17. Ahmad S, Khan Z, Asadzadeh M, Theyyathel A, Chandy R. Performance comparison of phenotypic and molecular methods for detection and differentiation of *Candida albicans* and *Candida dubliniensis*. *BMC infectious diseases*. 2012;12(1):230.
18. Sampath A, Weerasekera M, Dilhari A, Gunasekara C, Bulughapitiya U, Fernando N, et al. Comparison of duplex PCR and phenotypic analysis in differentiating *Candida dubliniensis* from *Candida albicans* from oral samples. *AMB Express*. 2017;7(1):141.
19. Pinjon E, Sullivan D, Salkin I, Shanley D, Coleman D. Simple, Inexpensive, Reliable Method for Differentiation of *Candida dubliniensis* from *Candida albicans*. *Journal of clinical microbiology*. 1998;36(7):2093-5.

20. Lourenço AG, Ribeiro AE, Nakao C, Motta AC, Antonio LG, Machado AA, Komesu MC. Oral Candida spp carriage and periodontal diseases in HIV-infected patients in Ribeirão Preto, Brazil. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*. 2017;59.
21. Babaei, N, MirSaeed SA, Mohammadi GH, Sefidgar SAA, RahmaniI, SMM. Comparative evaluation of oral candida flora status in patients hemodialysis and those with stage 3 and 4 chronic kidney disease (2016): 199-208.
22. Azizi A IE, Rafiee A., Lawaf Sh ,Keykha N. The Prevalence of Candida Species in Saliva of Asthmatic Patients Treated with Inhaled Corticosteroids: Comparison of Beclomethasone and Fluticasone. *Journal Of Dentistry*. 2007;2:56-63.
23. Zakavi F, Shokohi T, Mofarrah R, Taghizadeh M, Hedayati MT. Identification of Different Species of Candida in Diabetic Patients using PCR-RFLP. *Journal of Mazandaran University of Medical Sciences*. 2015;25(128):1-9.
24. Maheronnaghsh M, Tolouei S, Dehghan P, Chadeganipour M, Yazdi M. Identification of Candida species in patients with oral lesion undergoing chemotherapy along with minimum inhibitory concentration to fluconazole. *Advanced biomedical research*. 2016;5.
25. Abharian PH, Dehghan P, Abharian PH, Tolouei S. Molecular characterization of Candida dubliniensis and Candida albicans in the oral cavity of drug abusers using duplex polymerase chain reaction. *Current medical mycology*. 2018;4(1):12.
26. Javaheri MR, Mohammadi F, Chadeganipour M, Nekoian S, Dehghan P. Identification of Candida species in oral cavity of smokers and nonsmokers. *Journal of Isfahan Medical School*. 2016;33(362):2105-10.
27. Mohammadi F, Javaheri MR, Nekoeian S, Dehghan P. Identification of Candida species in the oral cavity of diabetic patients. *Current medical mycology*. 2016;2(2):1.
28. Kianipour S, Ardestani ME, Dehghan P. Kianipour S, Ardestani ME, Dehghan P. Identification of Candida albicans and Candida dubliniensis species isolated from bronchoalveolar lavage samples using genotypic and phenotypic methods. *Advanced biomedical research*. 2018;7.
29. Sun H, Chen Y, Zou X, Li H, Yin X, Qin H, et al. Occurrence of oral Candida colonization and its risk factors among patients with malignancies in China. *Clinical oral investigations*. 2016;20(3):459-67.